ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 26, 2, 1992

УДК 639.331.7 : 639.215.2

© 1992

ВЛИЯНИЕ СМЕШАННОЙ ИНВАЗИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС РАЗНОВОЗРАСТНЫХ КАРПОВ

Л. Я. Куровская, С. А. Осадчая, В. М. Пьянов

Исследовано влияние различных уровней инвазии моногенеями *Dactylogyrus extensus* Mueller et Van Cleave, 1932 и инфузориями *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet, 1876 на морфометрические показатели, уровень белка и активность некоторых гидролитических ферментов в сыворотке крови, жабрах и кишечнике сеголеток, годовиков и двухлеток карпа. У исследованных рыб обнаружены достоверные изменения биохимических показателей сыворотки крови и в кишечнике. При смешанной инвазии двухлеток карпа морфометрические показатели зараженных рыб достоверно ниже, чем у незараженных особей.

Относительно безвредные для рыб паразиты в условиях популяционного или физиологического стресса могут причинять рыбам существенный вред. В связи с этим заболевания в рыбоводных емкостях существенно отличаются от наблюдаемых в природе. Оценка патогенного влияния паразитов на организм рыб для диагностики и определения границы между паразитоносительством и болезнью имеет определенное научное и практическое значение. Паразитоносительство представляет потенциальную опасность как источник распространения инвазии и заражения новых особей рыб, особенно в условиях уплотненных посадок в водоемах (Васильков, 1983). Изучение патогенного влияния смешанных инвазий на искусственно разводимых рыб имеет важное практическое значение. Оно заключается в том, чтобы максимально ограничить наносимый тем или иным видом паразита ущерб здоровью рыб при максимальном сохранении стабильности экосистемы (Бреев, 1980).

У рыб, выращиваемых в тепловодных рыбных хозяйствах, редко встречается один вид паразита. Чаще всего условия таких хозяйств способствуют распространению на рыбах нескольких видов (ассоциации) паразитов, относящихся к различным систематическим группам и паразитирующих в разных органах и тканях рыб (Давыдов и др., 1982). В одном органе (жабры, кожа, кишечник) также может сформироваться ассоциация возбудителей паразитозов, и клинико-морфологические изменения в этих органах, а также во всем организме хозяина более выражены даже при сравнительно невысокой степени зараженности рыб паразитами каждого вида (Майоров, Гончаров, 1989).

Литературных данных по влиянию смешанной инвазии эктопаразитами на биохимический статус искусственно разводимых рыб сравнительно мало (Конради-Кондрашов, Висманис, 1979; Куровская, 1989; Богдан, Михкиева, 1987). Целью настоящего исследования явилось изучение на примере основного объекта товарного рыбоводства в нашей стране — карпа (*Cyprinus carpio* L.) сочетанного воздействия паразитических инфузорий *Ichthyophthirius multifiliis* и моногеней *Dactylogyrus extensus* на некоторые морфометрические и биохимические показатели рыб. Изучено влияние смешанной инвазии ихтиофтириусами и дактилогирусами на активность гидролаз и содержание белка в тканях непосредственного прикрепления паразитов (жабры) и в тканях, не имеющих соприкосновения с паразитами — сыворотке крови и кишечнике, но выполняющих важные физиологические функции в организме рыб. Для характеристики процессов пищеварения карпов, зараженных паразитами, а также процессов гидролиза сложных биологических компонентов в сыворотке крови и тканях жабр рыб использовали показатели каталитической способности амилазы (КФ 3.2.1.1.), протеазы (КФ 3.4.4.4.), липазы (КФ 3.1.1.3.), щелочной (КФ 3.1.3.1.) и кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2.).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на карпах одной популяции, выращиваемых в садково-бассейновом тепловодном рыбном хозяйстве при Киевской ТЭЦ-5, на протяжении полутора лет. Исследованы сеголетки (+) в осенний сезон (сентябрь—октябрь), годовики (1) в весенний сезон (апрель—май) и двухлетки (1+) в осенний сезон. Паразитологическое обследование рыб проводили по общепринятой методике (Быховская-Павловская, 1985). У карпов определяли массу, длину и упитанность по Фультону.

Для определения активности гидролитических ферментов в жабрах и кишечнике карпов готовили 2%-й раствор гомогената жаберных лепестков и цельных кишечников (сеголетки, двухлетки). Извлеченные из рыб органы взвешивали, измельчали ножницами и переносили в стеклянный гомогенизатор. Растирали ткани тефлоновым пестиком в дистиллированной воде, охлажденной до 2—4°, объем которой зависел от массы исследуемых органов. Затем гомогенаты фильтровали. Все операции проводили на холоду. В качестве ферментативно-активных препаратов кишечника годовиков карпа использовали смывы слизистой кишечника рыб и гомогенаты всей толщи стенки кишечника. Исследования проводили через 2—3 ч после кормления рыб стандартным гранулированным комбикормом. Следует отметить, что рыбное хозяйство на Киевской ТЭЦ-5 является хозяйством с прямоточной системой водоснабжения, где динамика изменений гидротермического режима отражает сезонные колебания с той лишь разницей, что температура воды удерживается в водоемах-охладителях на несколько градусов выше, чем в природных водоемах, из которых осуществляется забор воды (Романенко, 1983).

Амилолитическую активность (pH 6.9) определяли по уменьшению количества крахмала модифицированным методом Покровского, протеолитическую (pH 8) — казеина методом Покровского и Сергеевой (Асатиани, 1969), липазную (pH 8) — трибутирина по Шлыгину, щелочной (pH 8.6) и кислой фосфатазы (pH 5) — по приросту неорганического фосфора при гидролизе β-глицерофосфата модифицированным методом Боданского (Строев, Макарова, 1986). Активность ферментов рассчитывали на единицу белка в пробе с учетом количества расщепленного субстрата (амилаза, протеаза) или образовавшегося неорганического фосфора (фосфатаза) и времени инкубации фермент-субстратной смеси ($мг \times мин^{-1} \times мг^{-1}$). Активность липазы выражали в процентах уменьшения количества субстрата, рассчитанных на единицу белка в пробе, количество субстрата выражали в единицах оптической плотности ($E\ \% \times \times мг^{-1}$). В гомогенатах исследуемых органов, а также в сыворотке крови карпов определяли содержание белка по методу Лоури (Lowry e. a., 1951).

Статистическую обработку результатов проводили по общепринятой методике (Плохинский, 1980).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Паразитологическое обследование карпов разного возраста показало наличие инфузорий *I. multifiliis* и моногеней *D. extensus* только на жабрах рыб.

Экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 100 %. Сравнивали группу слабозараженных рыб, интенсивность инвазии (ИИ) которых колебалась от 2 до 10 экз. дактилогирусов (средняя 4.1±0.8), с группой сильнозараженных рыб, ИИ которых составляла 14—96 экз. дактилогирусов (29.6±7.8) и 2—112 экз. ихтиофтириусов (19.5±11.2). Достоверных различий морфометрических показателей и содержания белка в сыворотке крови, жабрах и кишечнике между особями двух исследуемых групп обнаружить не удалось (табл. 1). Изучение активности пищеварительных гидролаз у сеголеток показало статистически достоверное снижение протеолитической активности ($P<0.001$) и активности кислой фосфатазы ($P<0.001$) у рыб, зараженных значительным количеством паразитов. В жабрах сильнозараженных карпов отмечено снижение активности щелочной фосфатазы и увеличение активности кислой фосфатазы по сравнению со слабозараженными особями. Однако большой разброс данных в обеих группах не позволил получить достоверные различия между рыбами исследуемых групп (табл. 2).

Заражение годовиков карпа эктопаразитами оказалось незначительным: дактилогирусы — 2—8 (2.7±0.7), ихтиофтириусы — 2—14 экз. (2.6±0.9). При невысоком уровне заражения у годовиков карпа установлено достоверное снижение уровня белка в сыворотке крови ($P<0.05$) наряду с незараженными рыбами (табл. 1). У карпов этой возрастной группы исследовали уровень белка и активность пищеварительных ферментов раздельно в кишечной стенке и содержимом кишечника (смывы слизистой). В табл. 2 для годовиков карпа представлены данные активности гидролаз в кишечной стенке рыб. Показано достоверное увеличение уровня белка ($P<0.01$) и снижение активности щелочной фосфатазы ($P<0.05$) в кишечной стенке у зараженных рыб по сравнению с незараженными особями ($P<0.01$). В содержимом кишечника годовиков карпа при низком уровне заражения эктопаразитами отмечено снижение активности липазы (1.65±0.21 против 1.04±0.18, $P<0.05$) и активности кислой фосфатазы (0.44±0.07 против 0.16±0.04, $P<0.01$). В сыворотке крови и жабрах зараженных годовиков карпа не отмечены достоверные изменения активности исследуемых гидролитических ферментов.

У двухлеток карпа обнаружена высокая численность паразитов: дактилогирусы — 58—800 (324.9±40.0) и ихтиофтириусы — 1—396 экз. (43.5±20.8). Высокий уровень смешанной инвазии приводит к значительным морфофизиологическим изменениям в организме рыб. Паразиты обнаружены на рыбах, масса и упитанность которых достоверно отличаются от морфометрических показателей незараженных особей ($P<0.01$—0.001) (табл. 1). Содержание белка в жабрах зараженных рыб достоверно выше, чем у незараженных ($P<0.001$), а уровень белка в кишечнике значительно ниже у первых по сравнению с контрольными рыбами ($P<0.05$). При высоком уровне заражения рыб эктопаразитами в жабрах отмечено снижение активности щелочной фосфатазы ($P<0.05$), в кишечнике установлено повышение активности данного фермента ($P<0.001$) (табл. 2). Существенные изменения каталитической способности гидролаз обнаружены в сыворотке крови сильнозараженных двухлеток карпа, тогда как при слабой степени заражения эктопаразитами сеголеток и годовиков такие изменения не установлены. Отмечено снижение протеолитической активности в 2 раза ($P<0.01$), повышение активности щелочной фосфатазы в 3.5 раза, активности кислой фосфатазы в 2 раза ($P<0.05$—0.001) у рыб, зараженных эктопаразитами, наряду с незараженными особями.

Анализируя влияние смешанной инвазии дактилогирусами и ихтиофтириусами на морфофизиологические показатели карпов, следует отметить важную роль видового и количественного состава паразитов, вызывающих патологические изменения в организме хозяина, а также иммунофизиологическое состояние и возраст рыб.

Значительное заражение сеголеток карпа дактилогирусами и ихтиофти-

Таблица 1

Морфофизиологические показатели карпов разного возраста при смешанном заражении эктопаразитами

Morphophysiological indices of carps of different age at mixed infection

Показатели	Сеголетки		Годовики		Двухлетки	
	Б (*n* 19)	В (*n* 11)	А (*n* 4)	Б (*n* 16)	А (*n* 5)	В (*n* 27)
Масса, г	12.04±0.9	12.04±2.75	44.07±7.66	47.52±4.04	125.49±13.31*	78.18±8.94*
Длина, см	7.87±0.19	7.7±0.5	12.1±0.76	12.26±0.98	17±0.79	15.13±0.64
Упитанность, г % $см^{-3}$	2.4±0.03	2.32±0.12	2.42±0.05	2.49±0.03	2.55±0.17*	1.92±0.02*
Содержание белка						
сыворотка крови, г/л	37.7±2.6	48.9±5.3	45±4.9*	31.8±2.3*	34±7	29.5±2.3
жабры, г/100 г	4.37±0.33	5.82±0.66	2.73±0.57	1.98±0.25	0.84±0.11*	1.76±0.26*
кишечник, г/100 г	2.79±0.33	3.29±0.24	1.4±0.28*	2.81±0.42*	5.14±1.21*	1.89±0.18*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * — различия достоверны. А — незараженные рыбы, Б — слабозараженные, В — сильнозараженные.

Таблица 2

Активность гидролаз в тканях и органах карпов разного возраста при смешанном заражении эктопаразитами

Activity of hydrolases in tissues and organs of carps of different age at mixed infection with ectoparasites

Ферменты	Сеголетки		Годовики		Двухлетки	
	Б (*n* 19)	В (*n* 11)	А (*n* 4)	Б (*n* 16)	А (*n* 5)	В (*n* 27)
Жабры						
щелочная фосфатаза	0.15±0.08	0.03±0.01	0.1±0.09	0.3±0.09	2.02±0.57*	0.55±0.26*
кислая фосфатаза	0.2±0.07	1.16±0.64	0.36±0.15	0.26±0.1	3.12±1	1.43±0.26
Кишечник						
амилаза	0.19±0.01	0.22±0.01	0.07±0.03	0.06±0.01	0.28±0.11	0.21±0.02
протеаза	1.32±0.12*	0.61±0.18*	0.43±0.16	0.36±0.06	1.7±0.92	1.79±0.19
липаза	2.67±0.24	2.35±0.23	1.97±0.47	1.55±0.26	1.97±0.47	2.49±0.2
щелочная фосфатаза	0.38±0.1	0.97±0.32	6.66±1.49*	2.53±0.27*	0.06±0.02*	0.77±0.12*
кислая фосфатаза	2.3±0.3*	0.57±0.22*	1.98±1.5	0.14±0.05	0.39±0.08	0.46±0.16
Сыворотка крови						
амилаза			0.55±0.27	0.8±0.12	0.69±0.14	0.7±0.12
протеаза			15.32±4.84	17.88±3.15	39.34±8.18*	19.35±1.9*
щелочная фосфатаза			0	7.63±1.99	4.33±1.13*	15.08±2.22*
кислая фосфатаза			2.40±1.2	3.28±2.15	7.6±0.4*	14.08±2.56*

риусами влияет на процессы пищеварения, связанные с расщеплением белка в кишечнике и уровнем лизосомальных ферментов в слизистой кишечника хозяина. Изменения фосфатазной активности отмечены также в желудке мальков балтийского лосося и радужной форели в случае смешанного заболевания триходинозом и хилодонеллезом, а также при острой форме заболевания диплостомозом (Конради-Кондрашов, Висманис, 1979). Следует отметить наличие статистически достоверной коррелятивной зависимости между протеолитической активностью и активностью кислой фосфатазы для групп рыб с различнным уровнем зараженности (слабозараженные — $r=0.60$, $P<0.01$; сильнозараженные — $r=0.87$, $P<0.001$). Взаимосвязь каталитической способности трипсиноподобной протеазы и кислой фосфатазы была нами ранее отмечена в кишечнике сеголеток карпа при совместной инвазии цестодами *Bothriocephalus acheilognathi* и паразитическими рачками *Lerneae cyprinacea* (Куровская, 1984).

Если применить удельный индекс интенсивности (УИИ) (ИИ рыб дактилогирусами на 1 г массы рыбы), предложенный Головиной и др. (1987), то в нашем эксперименте для группы слабозараженных рыб он равен 0.3 экз./г, для сильнозараженных — 2.5 экз./г. Критерием диагностики дактилогироза, как отмечает Головина и др. (1987), является именно показатель УИИ, равный 2.5. Следовательно, в первой группе рыб мы имеем дело с паразитоносительством, для второй группы рыб исследуемый уровень зараженности является пограничным, разделяющим паразитоносительство от болезни. В данном случае дактилогироз усугубляется наличием ихтиофтириусов (на единицу массы рыбы приходится 1.6 экз. паразитов), при таком уровне смешанной инвазии в организме сеголеток карпа отмечено снижение активности некоторых гидролаз в кишечнике. Известно, что эктопаразиты вызывают изменение поведения рыб (Майоров, Гончаров, 1989). Карпы, зараженные ассоциацией возбудителей эктопаразитозов, проявляют беспокойство, держатся в верхних слоях воды. Это в свою очередь, приводит к нарушению питания рыб и вызывает патологические изменения процессов пищеварения.

У годовиков карпа после выхода из зимовки, когда снижена сопротивляемость организма и карпы только приступили к активному питанию, невысокий уровень заражения рыб эктопаразитами приводит к изменению белкового обмена в организме рыб. Наблюдается нарушение процессов гидролиза белка в кишечнике и образования белковых комплексов в сыворотке крови. Увеличение уровня белка в кишечнике инвазированных рыб сопровождается снижением фосфатазной и липазной активности. Исследования по влиянию ихтиофтириусов на карпа показали, что увеличение содержания некоторых белков и снижение уровня активности большинства лизосомальных ферментов в ряде органов карпа может быть результатом токсического воздействия эктопаразитов на рыбу (Высоцкая и др., 1985). Заражение карпов моногенеями *Dactylogyrus* sp. существенно влияет на липидный состав тканей карпа, не имеющих непосредственного соприкосновения с паразитами. Так, например, уровень содержания липидов в мышцах карпа выше, чем в печени (Гурьянова, 1987). Механизм воздействия эктопаразитов на рыбу не вполне ясен. Возможно, продукты очаговых некрозов, возникающих вокруг внедрения паразитических инфузорий и моногеней в жаберный эпителий, попадают с током крови в другие органы и ткани карпа и влияют на протекающие в них биохимические процессы. Это могут быть аминокислоты, которые в силу специфических свойств (высокой морфогенности, способности к образованию амидов, участия в выработке гормонов) могут индуцировать или ингибировать биосинтез гормонов и через последние воздействовать на обмен веществ хозяина (Окопный, Тромбицкий, 1984). Степень такого влияния, по-видимому, зависит от многих факторов.

Жаберные паразиты, питаясь тканевыми соками и отслоенными клетками эпителия, вызывают глубокие нарушения структуры и функции не только жаберного аппарата, но и всего организма. Выраженные клинические признаки дактилогироза двухлеток карпа показывают, что это заболевание да к тому же, если оно усугубляется смешанной инвазией, может нанести значительный ущерб выращиванию товарной рыбы. Влияние дактилогирусов на рыбоводные показатели молоди карпа в прудах является результатом отрицательного воздействия паразитов на темп роста и упитанность рыб, что является прямым следствием нарушения процессов питания и пищеварения карпов (Головин, 1987). Кроме токсического влияния эктопаразитов, на организм карпа существует и стрессовое воздействие паразитов на рыб, о чем свидетельствуют наблюдаемые изменения некоторых биохимических показателей в органах зараженных карповых рыб (Смирнов, 1987). При неблагоприятных условиях выращивания рыб (повышение плотности посадки, неполноценные корма, снижение температуры воды, технологическое воздействие) отрицательное влияние дактилогирусов возрастает и может проявиться в снижении роста рыб при зараженности менее 10 экз./г. В нашем эксперименте с двухлетками карпа снижение массы и упитанности рыб установлено при зараженности дактилогирусами 4—5 экз./г и ихтиофтириусами — 1—2 экз./г.

Таким образом, на основании исследований некоторых морфометрических и биохимических показателей карпов, зараженных эктопаразитами, можно заключить, что пограничная величина зараженности, разделяющая паразитоносительство и болезнь, не может быть величиной постоянной, а зависит от уровня смешанной инвазии, возраста рыб и условий их выращивания.

Список литературы

Асатиани В. С. Ферментные методы анализа. М.: Наука, 1969. 740 с.

Бреев К. А. Новые аспекты методологии борьбы с паразитами в связи с проблемой охраны среды // Паразитол. сб. АН СССР. 1980. Т. 29. С. 5—13.

Богдан В. В., Михкиева В. С. Липиды и циклические нуклеотиды в тканях годовиков карпа при протозойных инвазиях // Биохимия молоди рыб в зимовал. период. Петрозаводск. 1987. С. 106—110.

Быховская-Павловская И. Е. Паразиты рыб. Руководство к изучению. Л.: Наука, 1985. 124 с.

Васильков Г. В. К вопросу о паразитоносительстве // Ветеринария. 1983. № 11. С. 45—47.

Высоцкая Р. У., Смирнов Л. П., Ванятинский В. Ф. Влияние инвазии ихтиофтириус на белковый состав и активность лизосомальных ферментов годовиков карпа // Биохимия молоди пресноводных рыб. Петрозаводск, 1985. С. 40—44.

Головин П. П. Влияние Dactylogyrus vastator на рыбоводные показатели молоди карпа в прудах // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1987. № 50. С. 65—75.

Головина Н. А., Головин П. П., Ванятинский В. Ф. К вопросу о диагностике дактилогирозов карпа // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1987. № 50. 47—57.

Гурьянова С. Д. Влияние инвазии моногеней Dactylogyrus sp. на липидный состав некоторых тканей карпа // Биохимия молоди рыб в зимовал. период. Петрозаводск, 1987. С. 102—106.

Давыдов О. Н., Серегина Л. Я., Стражник Л. В., Куровская Л. Я. Особенности паразитофауны рыб водоема-охладителя Киевской ТЭЦ-5 // Вестник зоологии. 1982. № 4. С. 16—20.

Конради-Кондрашов М. А., Висманис К. О. Нарушение обменных процессов в организме лососевых рыб при паразитарных заболеваниях // Теоретические и практические вопр. паразитол. (Матер. 8-й науч.-координац. конф. по пробл. паразитол. в Прибалтике). Тарту, 1979. С. 147—149.

Куровская Л. Я. Влияние заражения сеголетков карпа паразитами на ферментативную активность кишечника // Сб. науч. тр. ВНИИПРХ. 1984. № 40. С. 68—73.

Куровская Л. Я. Нарушение обменных процессов в организме карповых рыб при эктопаразитарных инвазиях // Экологическая физиология и биохимия рыб. 7-я Всесоюз. конф. Ярославль, май 1989 г. (Тез. докл.) Т. 1. М., 1989. С. 239—241.

Майоров Б. А., Гончаров С. К. О паразитоценозе гельминтов и простейших у карпа // Динамика зооценозов, пробл. охраны и рац. использ. живот. мира Белоруссии. (Тез. докл. 6-й зоол. конф., Витебск, 19—21 сент. 1989). Минск, 1989. С.. 25—26.

Окопный Н. С., Тромбицкий И. Д. О ферментативной активности метацеркарий рода Diplostomum (Trematoda, Diplostomidae) // Паразитология. 1984. Т. 18, № 3. С. 228—232.

Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. М.: Изд-во МГУ, 1980. 150 с.

Романенко В. Д. Эколого-физиологические основы тепловодного рыбоводства. Киев: Наук. думка, 1983. 143 с.

Смирнов Л. П. Методологические аспекты изучения влияния патогенных факторов внешней среды на биохимический статус рыб // Тез. докл. 1-го симпоз. по эколог. биохимии рыб. Ярославль, 1987. С. 180—181.

Строев Е. К., Макарова В. П. Практикум по биологической химии. М.: Высш. шк., 1986. 231 с.

Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. 193. N 2. P. 265—275.

Nasir P. Protozoan piscine maladies // Riv. parasitol. 1982. Vol. 43, N 2. P. 209—225.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена, Киев

Поступила 29.09.1989

THE EFFECT OF MIXED INFECTION ON THE BIOCHEMICAL STATUS OF CARPS OF DIFFERENT AGE

L. Ja. Kurovskaya, S. A. Osadchaya, V. M. Pyanov

Key words: double infection, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Dactylogyrus extensus*, influence, fatness, protein content, activity of enzymes

SUMMARY

The effect of different levels of infection with *Dactylogyrus extensus* and *Ichthyophthirius multifiliis* on morphometric indices, protein content and activity of some hydrolytic enzymes (amylase, protease, lipase, alkaline and acid phosphatase) in the blood serum, gills and intestine of carp (young-of-the year, yearlings, biennials) was investigated. Proteolytic and acid phosphatase activity in the intestine of heavily infected young-of-the year (an average of 30 specimens of *Dactylogyrus* and 20 specimens of *Ichthyophthirius* per fish) was found to be definitely lower than in poorly infected individuals (4 specimens of *Dactylogyrus*). Poorly infected yearlings (3 specimens of *Dactylogyrus* and *Ichthyophthirius*) have shown a reliable decrease in the protein level of the blood serum and an increase in the protein content of the intestinal wall as compared to noninfected carps. In the intestine of infected fishes there was observed a decrease in lipase and phosphatase activity. The comparison of heavily infected biennials (325 specimens of *Dactylogyrus* and 44 specimens of *Ichthyophthirius*) with noninfected fishes has shown a decrease in body mass and fatness of infected fishes, changes in the protein level, proteolytic and phosphatase activity of the intestine and blood serum of fishes.